

研究

ADVIA2120i 体液モードを用いた

尿検体解析の有用性について

原 毅, 高崎将一, 寺尾裕美子, 大畑雅彦

静岡赤十字病院検査部

Usefulness of urine sample analysis using ADVIA2120i body fluid mode

要旨

ADVIA2120i 体液モードは、胸水、腹水をはじめとする体腔液の細胞数測定及び白血球分類機能を有し、良好な基本性能を有している。今回、体液モードにて部分尿検体を測定し、その有用性を検討した。ADVIA2120i Perox サイトグラムの LUC 分画右側の直線を底辺にして細胞集団中央との角度を測定したところ、グラム陰性桿菌はグラム陽性球菌に比べ有意に高値であった。また尿中%Baso 10%以上及び S 染色 2 型 20%以上の症例は、尿路感染を生じやすい患者背景（廃用症候群、寝たきり、要全介助、意識障害）が多く、両者には弱いながら相関があり興味深い所見であった。ADVIA2120i 体液モードでの尿検体の測定は、従来とは異なる情報を得ることが可能で有用と思われる。

Takeshi Hara, et al : ISSN 1343-2311 Nisseki Kensa 49 : 57—62, 2016 (2015.12.28 受理)

KEYWORDS

ADVIA2120i, 体液モード, 尿中%Baso, S;Sternheimer 染色

はじめに

ADVIA2120i には CSF（脳脊髄液）、体液（体腔液：胸水、腹水等）を測定するモードがある。体液モードの性能は、細胞数 $5/\mu\text{l}$ から $5,200/\mu\text{l}$ までの希釈直線性を有し、細胞総数の多い検体でも、同時再現性、目視法との相関は良好であると報告されている¹⁾²⁾。また、腹膜透析排液においても白血球数計測や白血球分画の自動化の可能性について三舛、森下らにより述べられている³⁾⁴⁾。しかし、尿検体への応用とその有用性についての検討はなされていない。

今回我々は、尿中の総有核細胞数（以下 TNC）が $100/\mu\text{l}$ 以上増加した症例の部分尿を体液モードにて測定し、その有用性を検討した。さらに全症例の尿沈渣において S 染

色を実施し、若干の知見を得たので報告する。

【対象及び方法】

平成 26 年 9 月から平成 27 年 4 月に、尿定性、尿沈渣、尿培養検査の同時依頼のあった 50 例を対象とし、ADVIA2120i の %Baso と患者背景の関連を検討した。50 例の内訳は、男性 23 例、女性 27 例、外来入院別では外来 36 例、入院 14 例であった（表 1, 2）。

表 1. 症例の内訳

| | |
|---------|--------------|
| 患者数 | 50例 |
| 男性 | 23例(46%) |
| 女性 | 27例(54%) |
| 外来 | 36例(72%) |
| 入院 | 14例(28%) |
| 平均年齢±SD | |
| 男性 | 74.2 ± 14.9歳 |
| 女性 | 74.2 ± 13.4歳 |
| 外来 | 71.6 ± 15.0歳 |
| 入院 | 80.9 ± 8.5歳 |

表2 症例の内訳

| Case | ADVIA2120i | | | SM2型 | Sysmex-BACT 波形パターン | 菌種 | 菌量 (CFU/ml) |
|------|------------|----|-------|------|-----------------------|-------------|-----------------|
| | TNC | 角度 | %BASO | | | | |
| 1 | 298 | 19 | 13.8 | 28 | 下方 | GNR | 10 ⁸ |
| 2 | 900 | 20 | 4.3 | 27 | 下方 | GNR | 10 ⁸ |
| 3 | 1,054 | 20 | 6.6 | 12 | 下方 | GNR | 10 ⁸ |
| 4 | 887 | 20 | 21.2 | 14 | 下方 | GNR | 10 ⁸ |
| 5 | 121 | 21 | 4.8 | 7 | 下方 | GNR | 10 ⁸ |
| 6 | 373 | 21 | 9.3 | 41 | 下方 | GNR | 10 ⁸ |
| 7 | 144 | 22 | 14.0 | 20 | 幅広 | GNR | 10 ⁷ |
| 8 | 107 | 22 | 3.0 | 3 | 下方 | GNR | 10 ⁸ |
| 9 | 10,478 | 22 | 12.4 | 7 | 下方 | GNR | 10 ⁷ |
| 10 | 219 | 22 | 8.0 | 5 | 下方 | GNR | 10 ⁷ |
| 11 | 421 | 24 | 14.8 | 27 | 下方 | GNR | 10 ⁸ |
| 12 | 2,481 | 25 | 1.6 | 3 | 下方 | GNR | 10 ⁷ |
| 13 | 784 | 25 | 0.6 | 2 | 下方 | GNR | 10 ⁸ |
| 14 | 1,321 | 25 | 6.9 | 9 | 下方 | GNR | 10 ⁷ |
| 15 | 3,687 | 25 | 0.4 | 14 | 下方 | GNR | 10 ⁸ |
| 16 | 339 | 27 | 23.3 | 47 | 下方 | GNR | 10 ⁷ |
| 17 | 1,018 | 27 | 8.4 | 9 | 下方 | GNR | 10 ⁸ |
| 18 | 172 | 27 | 5.0 | 5 | 下方 | GNR | 10 ⁸ |
| 19 | 24,446 | 29 | 4.3 | 24 | 幅広 | GNR | 10 ⁸ |
| 20 | 274 | 29 | 10.8 | 33 | 下方 | GNR | 10 ⁸ |
| 21 | 103 | 29 | 1.1 | 3 | 下方 | GNR | 10 ⁸ |
| 22 | 32,642 | 30 | 2.2 | 25 | 下方 | GNR | 10 ⁸ |
| 23 | 3,962 | 30 | 0.5 | 2 | 下方 | GNR | 10 ⁸ |
| 24 | 791 | 30 | 4.4 | 2 | 下方 | GNR | 10 ⁸ |
| 25 | 1,997 | 30 | 8.4 | 17 | 下方 | GNR | 10 ⁸ |
| 26 | 559 | 30 | 0.2 | 5 | 下方 | GNR | 10 ⁸ |
| 27 | 244 | 30 | 7.5 | 4 | 下方 | GNR | 10 ⁵ |
| 28 | 19,180 | 31 | 9.4 | 22 | 下方 | GNR | 10 ⁸ |
| 29 | 15,271 | 35 | 12.0 | 61 | 幅広 | GNR | 10 ⁸ |
| 30 | 28,236 | 10 | 24.2 | 34 | 上方 | GPC | 10 ⁸ |
| 31 | 9,837 | 15 | 16.6 | 8 | 上方 | GPC | 少数 |
| 32 | 2,493 | 15 | 6.9 | 5 | 幅広 | GPC | 10 ⁸ |
| 33 | 689 | 20 | 19.9 | 24 | 上方 | GPC | 10 ⁴ |
| 34 | 3,164 | 20 | 1.0 | 8 | 幅広 | GPC | 10 ² |
| 35 | 1,354 | 20 | 4.6 | 15 | 下方 | GPC | 10 ⁸ |
| 36 | 702 | 22 | 1.7 | 28 | 幅広 | GPC | 10 ⁸ |
| 37 | 399 | 24 | 1.2 | 2 | 幅広 | GPC | 10 ⁷ |
| 38 | 102 | 25 | 15.9 | 11 | 幅広 | GPC | 10 ⁴ |
| 39 | 5,413 | 32 | 0.8 | 1 | 下方 | GPC | 10 ⁵ |
| 40 | 533 | 18 | 4.1 | 8 | 幅広 | GNR,GPR | 10 ⁵ |
| 41 | 260 | 20 | 0.9 | 24 | 下方 | GPC,GNR | 10 ⁸ |
| 42 | 389 | 23 | 8.9 | 0 | 幅広 | GPC,GNR | 10 ⁷ |
| 43 | 1,552 | 25 | 0.4 | 15 | 上方 | GPR | 10 ⁸ |
| 44 | 274 | 27 | 6.1 | 23 | 下方 | GPC,Candida | 10 ⁵ |
| 45 | 214 | 28 | 2.2 | 7 | 下方 | GNR,GPR | 10 ⁷ |
| 46 | 352 | 20 | 1.0 | 1 | — | — | — |
| 47 | 260 | 25 | 3.5 | 8 | — | — | — |
| 48 | 110 | 29 | 1.1 | 4 | — | — | — |
| 49 | 415 | 30 | 0.6 | 1 | — | — | — |
| 50 | 419 | 30 | 4.3 | 24 | — | — | — |

ADVIA2120i Perox サイトグラムを画面コピーし図1に示した. 具体的にはLUC分画右の直線を底辺として, 一例毎に分度器を用いて細胞集団中央との角度を測定した. さらに尿培養陽性の45例を対象とし, ADVIA 2120i Perox サイトグラムの特徴を解析した. UF1000 BACT スキャッタグラムのドットパターンは, 小澤らの分類方法(上方, 下方, 幅広)に沿って分類した⁵⁾. クロス集計にお

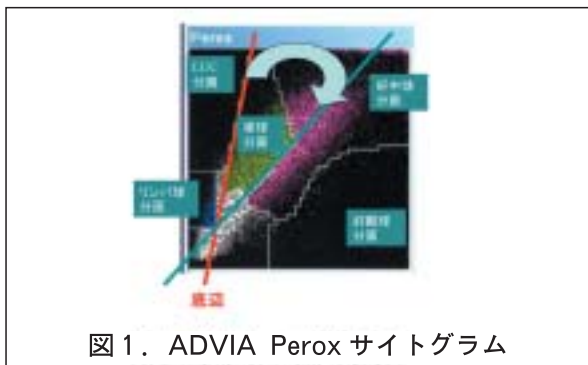


図1. ADVIA Perox サイトグラム

いては, 上方と下方及び幅広に分けて検討した. ADVIA2120i Perox サイトグラムの角度は, ≤ 20 及び > 20 に分類した.

S染色における検討は, 全く染色されていないものを0型, 細胞質のみ染色されているものを1型, 核まで染色されているものを2型と分類し(図2), 2分以内に尿中白血球を100カウントした. 全ての分析は, 検体提出から4時間以内に行った.



図2. S染色 染色性の分類

【結果】

1) ADVIA2120i 体液モード, Perox サイトグラムの尿培養陽性菌種による角度の違い

ADVIA2120i Perox サイトグラムの角度と検出された菌種について代表的な図表を示した(図3). TNCに応じてADVIA 2120i Perox サイトグラムのドット数は相応して変化した.

角度については, 図4に示すようにグラム陰性桿菌は20度から35度に分布し, 平均 \pm SD 25.8 ± 4.3 (N=29), グラム陽性球菌は10度から32度に分布し, 20.3 ± 6.1 (N=10)と有意差が認められた. 培養陰性は20度から30度に分布し, 26.8 ± 4.3 (N=5)とグラム陰性桿菌と同様の傾向を示した. グラム陰性桿菌は, E.coliをはじめ様々な菌種が検出されたが, 29例において菌種による角度の違いは認めなかった. グラム陽性球菌の10例において, 角度が小さかったのが, E.faecalisの4例であった(表2 cace30,31,33,35の4症例).

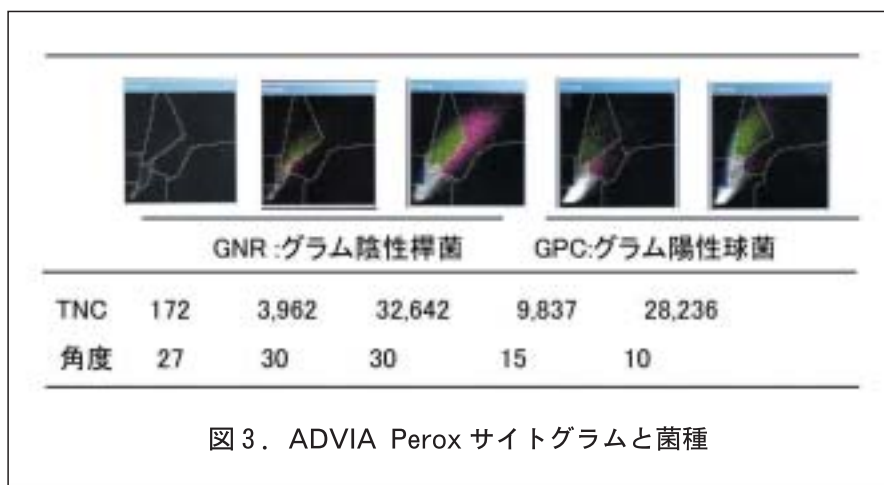


図3. ADVIA Perox サイトグラムと菌種

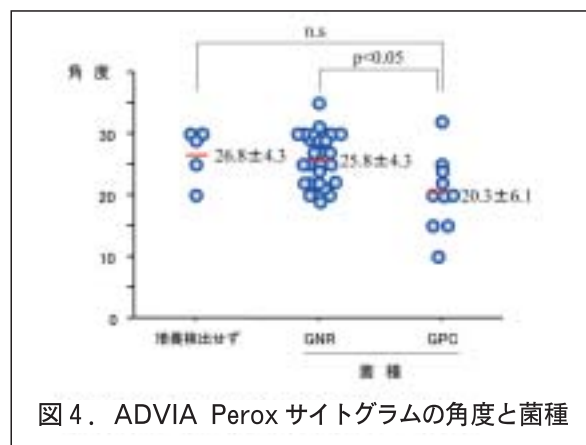


図4. ADVIA Perox サイトグラムの角度と菌種

2) UF1000i-BACT スキャッタグラムとの対比

UF1000i-BACT スキャッタグラムは，従来の報告どおりグラム陰性桿菌では角度が小さく，グラム陽性球菌では大きい傾向があった（図5）．UF1000i-BACT スキャッタグラムは細菌数を表示しているため，その量に比例しドットが鮮明に描写された．一方，ADVIA2120i Perox サイトグラムは細菌が多数検出されてもドット数とは相関しなかった．また，グラム陽性球菌及びグラム陰性桿菌の検出例において，ADVIA Perox サイトグラムとのクロス集計を行った（図6, 7）．

グラム陰性桿菌検出例では，ADVIA Perox

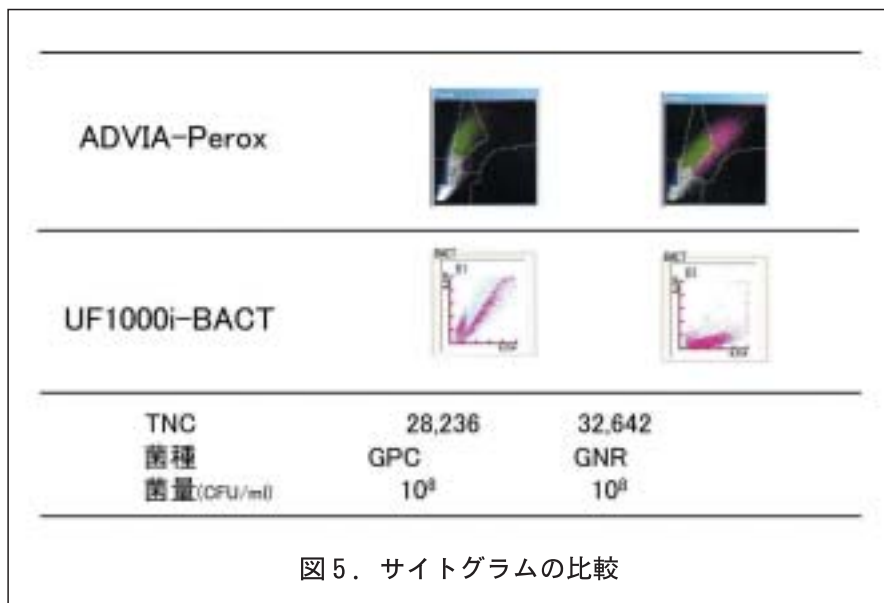


図5. サイトグラムの比較

サイトグラムの角度を利用する価値は見いだせなかった．一方，グラム陽性球菌検出例においては，有意差はみられないが ADVIA Perox サイトグラムの角度を測定することにより菌種の推定がある程度可能であった．

| | | UF1000i-BACT | |
|------------------|-----|--------------|-------|
| | | 上方 | 下方・幅広 |
| ADVIA2120i-Perox | ≤20 | 0 | 4 |
| | >20 | 0 | 25 |

図6. クロス集計 グラム陰性桿菌

| | | UF1000i-BACT | |
|------------------|-----|--------------|-------|
| | | 上方 | 下方・幅広 |
| ADVIA2120i-Perox | ≤20 | 4 | 2 |
| | >20 | 1 | 3 |

$p=0.5238$

図7. クロス集計 グラム陽性球菌

3) 患者背景と%Baso 及びS染色染色性との関連

寝たきり等（廃用症候群，寝たきり，要全介助，意識障害）の有無で%Baso 及びS染色染色性の関連を上記症例において検討した．%Baso とS染色2型ともに有意に高値を示した（図8）．さらにS染色2型と%Basoを組み合わせると，%Baso 10%以上及びS染色2型

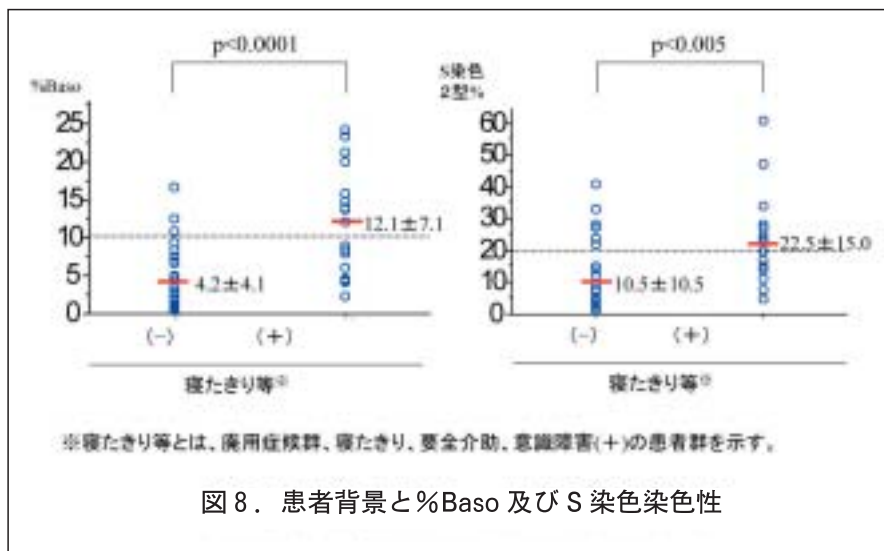


図8. 患者背景と%Baso 及びS染色染色性

20%以上の群で、寝たきり等の割合が多く認められた（図9）。全体では弱いながら相関がみられた。しかし、寝たきり等のある群（N=17, R=0.362, p=0.1532）、及びない群（N=33, R=0.317, p=0.0720）個々の相関は低く有意差はなかった。

また、尿検体提出時血液培養が施行されたのは18例で、そのうち陽性は4例であった。陽性のうち、尿培養検査と同一菌種（E.coli）が検出された症例は2例であり、2例とも%Baso 10%以上及びS染色2型20%以上であった。

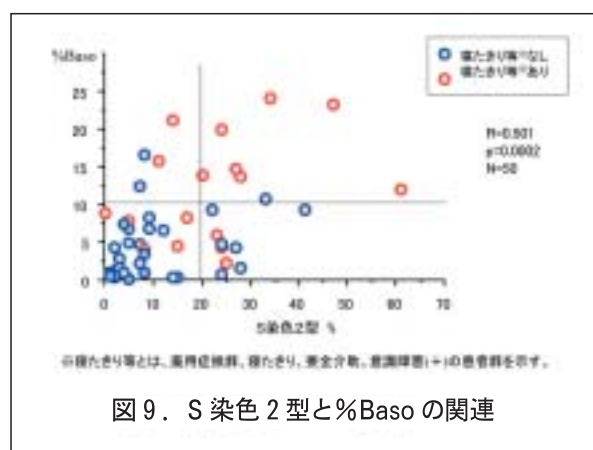


図9. S染色2型と%Basoの関連

【考察】

ADVIA2120i 体液モードは、胸水、腹水をはじめとする体腔液中の細胞数算定に加え、ペルオキダーゼ活性を利用した白血球分類機能を有しており、良好な基本性能を有している¹⁾。今回の検討は、ADVIA2120iの機器特性を踏まえたものである。体液モードの臨床的有用性を示す報告は多数存在するが、その中でTNCと赤血球数についてはFDAの認証を得た測定値であり、それ以外の測定値は参考値とされている。サイトグラムはPeroxサイトグラム、Basoサイトグラムの2つ存在する。Peroxサイトグラムは、X軸にペルオキダーゼ染色強度、Y軸に細胞容積がプロットされ、リンパ球、単球、好中球、好酸球、ペルオキダーゼ陰性大型細胞LUC (large unstained cell) に分類される¹⁾。一方Basoサイトグラムは、縦軸に容積、横軸に核密度を表し、二次元マップでTNCと赤血球数を算出する²⁾。画面下部中央に%MN、その右側に%PMNが表示される。当院検査部では体腔液細胞数算定の検査依頼があった場合、TNCと共に単核球として%MN、多核球として%PMNの測定結果を報告している。%

Basoは、サイトグラム上半分に表示され、使用していない測定値の一つである。%Basoは、末梢血や体腔液の場合、好塩基球の他に酸性に抵抗性がある細胞を表示している。酸性に抵抗性がある細胞とは、血液細胞にはないような大型細胞の可能性がある。尿では検証されていないため詳細は不明である。

全自動尿中有形成成分分析装置UF1000iは、良好な基礎的評価（同時再現性、日差再現性、アンチキャリーオーバー、希釈直線性、目視法との相関性）がされている機種である。また側方散乱光の計測や細菌専用チャンネル（BACT スキャッタグラム）を採用することで、より高精度となっている⁶⁾。尿中細菌検出は、目視顕鏡法及び定量培養法よりも優れた再現性を有し、菌濃度 $10^3 \sim 10^7$ /mLの範囲で十分な菌計数性能を有している⁷⁾。UF1000i-BACT スキャッタグラムは細菌を表示しており、さらにX軸を基準に角度の小さい領域の菌種はグラム陰性桿菌、角度の大きい領域の菌種はグラム陽性球菌を認めることが多く⁵⁾⁸⁾⁹⁾、今回の検討でも同様の結果であった。一方、ADVIA Perox サイトグラムは白血球のペルオキダーゼ染色に対する反応性の変化を表示しており、菌種により差が認められた。しかし培養陰性の5例はグラム陰性桿菌と同様な傾向を示し、両者の判別が困難であった。一方、グラム陽性球菌検出例では、角度を20度でカットオフすることにより60% (6/10)の症例で菌種の推定が可能であった。今後症例数を増やし継続して検討する必要があるが、UF1000iユーザーではなくても、ADVIA2120iを有している施設であれば尿培養検査において菌種のスクリーニングができる可能性が示唆された。

尿中%Baso10%以上及びS染色2型20%以上の症例は、尿路感染を生じやすい患者背景（廃用症候群、寝たきり、要全介助、意識障害）が多く、両者には弱いながら相関があり興味深い所見であった。我々は尿中%Baso10%以上ではアポトーシスを起こした細胞等を示している可能性があると考えている。ADVIA2120i 体液モードでの尿検体の測定は、従来とは異なる情報を得ることが可能で有用と思われた。S染色の染色性、疾患との関連性及びPeroxサイトグラムにおける菌種による好中球の変化について症例の蓄積とさらに検討を進めたい。

【文献】

- 1) 竹村浩之, 田部陽子他: 自動血球分析装置 ADVIA2120i による体腔液測定に関する検討. 日本検査血液学会誌 13: 176-181.2012
 - 2) 田中雅美, 宿谷賢一他: 総合血液学検査装置 ADVIA2120i による髄液・体腔液細胞算定の検討. JJCLA38: 129-136. 2013
 - 3) 三舛正志, 森下未来依他: 総合自動血球分析装置 ADVIA2120i を用いた腹膜透析排液の検討ー第1報ー. 腎と透析 71 別冊 腹膜透析: 91-92.2011
 - 4) 三舛正志, 森下未来依他: 総合自動血球分析装置 ADVIA2120i と解析ソフトを用いた腹膜透析排液白血球分画の試み. 腎と透析 71 別冊 腹膜透析: 93-94.2011
 - 5) 小澤秀夫, 矢島尚子他: 全自動尿中有形成成分分析装置 UF1000i による細菌スキャッタグラムと尿培養による細菌同定結果の比較. Sysmex Journal34Suppl 1: 19-26.2011
 - 6) 梶栗由美子, 大岩瑞穂他: 尿中有形成成分分析装置 UF-1000i の基礎的検討. Sysmex Journal 29: 54-64.2006
 - 7) 岡田弘, 堀江重郎他: 自動尿中有形成成分分析装置 UF-1000i を用いた尿中細菌検出の基礎検討. Sysmex Journal 30: 95-103.2007
 - 8) 庄司麗子, 仲居恵子他: 全自動尿中有形成成分分析装置 UF1000i の評価～新たな指標としての細菌数測定の評価も加えて～. JJCLA34: 106-109.2009
 - 9) 一柳好江, 宇野納子他: 全自動尿中有形成成分分析装置 UF1000i による細菌スキャッタグラムと尿培養による細菌同定結果の比較, 岐阜市民病院年報 30: 23-26.2010
-